

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

A. Kategori Penelitian dan Rancangan Percobaan

1. Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen eksploratif dengan rancangan acak lengkap pola searah.

2. Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas yaitu dosis pemberian diantaranya Na diklofenak, akuades dan infusa daun sirih.
- b. Variabel tergantung yaitu volume udem kaki tikus.
- c. Variabel kendali meliputi:
 - i. Hewan uji : umur, berat badan dan jenis kelamin
 - ii. Daun sirih : tempat dan waktu pengambilan daun sirih.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan panci infus, kompor, glassware, pletismometer, timbangan tikus, spuit injeksi, spuit oral dan neraca analitik.

2. Bahan

- a. Bahan untuk pembuatan infusa : Daun Sirih (berasal dari Desa Telukan Kecamatan Grogol Kabupaten Sukoharjo Jawa tengah diambil pada bulan September 2005), akuades.
- b. Bahan kimia antara lain : Na Diklofenak (tablet Voltadek, Dexa Medica), karagenin (Sigma), Na CMC dan akuades.

- c. Hewan uji : tikus putih jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram dari Laboratorium Farmakologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

C. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman sirih yang digunakan. Determinasi tanaman Sirih (*Piper betle* L.) di Laboratorium Morfologi dan Fisiologi Tumbuhan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Jurusan Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Pengeringan dan Pembuatan Serbuk

Daun sirih dikumpulkan, dicuci, diangin-anginkan, dipotong-potong, selanjutnya dihamparkan di atas nampan kemudian ditutup kain hitam dikeringkan di bawah sinar matahari sampai kering kemudian diserbuk dengan dengan blender dan disimpan dalam botol gelap dan tertutup rapat.

3. Pembuatan Infusa Daun Sirih

Infusa dibuat dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60%. Pada konsentrasi 20% simplisia ditimbang sebanyak 20 gram dan ditambah 100 ml air, jika simplisia belum terendam semua maka ditambah air dua kali berat simplisia agar hasil penyarian sempurna, dengan cara yang sama konsentrasi infusa 40% dan 60% masing-masing ditimbang 40 gram dan 60 gram. Infusa dipanaskan pada suhu 90° C selama 15 menit, diserkai dengan kain flanel.

Jika infusa yang diperoleh belum mencapai volume yang diinginkan, maka ditambah air panas melalui ampas simplisia hingga mencapai 100 ml.

4. Pembuatan Larutan Garam Fisiologis

Larutan garam fisiologis dibuat dengan melarutkan sejumlah 0,9 gram NaCl dalam akuades sampai volume 100 ml.

5. Pembuatan Larutan CMC Na 1%

Larutan dibuat dengan menimbang secara seksama sejumlah 1 gram CMC Na kemudian dilarutkan dalam akuades sampai volume 100 ml.

6. Pembuatan Larutan Karagenin 1%

Sejumlah 1 gram karagenin dilarutkan dalam larutan NaCl fisiologis sampai volume 100 ml.

7. Penetapan Dosis

a. Dosis Na diklofenak

Dosis Na diklofenak untuk tikus 200 gram sebesar 0,045 mg/KgBB

b. Dosis Infusa Daun Sirih

Dosis infusa daun sirih diperoleh dari konsentrasi 20%, 40% dan 60% dengan volume pemberian untuk tikus adalah 2,5ml/ 200gram.

8. Perlakuan Hewan Uji

a. Uji Pendahuluan

1. Penetapan waktu pemberian infusa daun sirih

Waktu pemberian infusa daun sirih ditetapkan dengan membagi hewan uji menjadi 3 kelompok masing-masing 3 ekor tikus.

Infusa daun sirih konsentrasi 40% dengan volume 2,5 ml/200 g BB diberikan 1 jam; 0,5 jam dan sesaat sebelum injeksi karagenin.

2. Penetapan waktu pemberian Na Diklofenak dosis 0,045 mg/KgBB

Waktu pemberian Na Diklofenak ditetapkan dengan membagi hewan uji dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 3 ekor tikus. Na Diklofenak dosis 0.045 mg/KgBB diberikan peroral 1 jam, 0,5 jam dan sesaat sebelum penyuntikan karagenin.

b. Uji Utama

Tiga puluh ekor hewan uji yaitu tikus putih jantan dibagi menjadi 5 kelompok yang dipelihara dalam kondisi yang sama. Perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

Kelompok I : Kontrol negatif, diberi akuades peroral (2,5 ml/200 g BB)

Kelompok II : Kontrol positif, diberi Na diklofenak 0,045 mg/Kg BB peroral.

Kelompok III : Diberi infusa daun sirih 20%; 2,5 ml/200 g BB peroral.

Kelompok IV : Diberi infusa daun sirih 40%; 2,5 ml/200 g BB peroral.

Kelompok V : Diberi infusa daun sirih 60%; 2,5 ml/ 200 g BB peroral.

Semua kelompok diinjeksi dengan 0,1 ml karagenin 1% secara subplantar, sesuai dengan hasil orientasi waktu pemberian. Masing-masing hewan uji diukur volume kakinya dengan mencelupkan sampai tanda batas (mata kaki) ke dalam air raksa pada pletismometer. Volume kaki tikus diukur sebelum dan sesudah perlakuan, setelah tikus diberi perlakuan kemudian diukur volume kaki tikus setiap 0,5 jam selama 5 jam.

D. Teknik Analisis

Volume udem dihitung dengan mengurangi volume kaki tikus sebelum dan sesudah diradangkan dengan rumus:

$$V_u = V_t - V_o$$

Keterangan:

V_u : Volume udem kaki tikus tiap waktu

V_t : Volume kaki tikus setelah diradangkan karagenin pada waktu t

V_o : Volume kaki tikus sebelum diradangkan.

$$\text{Rumus \% Penghambatan} = \frac{a-b}{b} \times 100\%$$

(Anonim, 1991)

Keterangan :

a : Volume udem rata-rata kontrol negatif (pemberian akuades 2,5 ml/200gBB)

b : Volume udem rata-rata kelompok perlakuan

Data yang diperoleh dari hasil perlakuan dihitung nilai AUC (*Area Under Curve*), dari volume udem rata-rata kaki tikus dengan waktu.

$$AUC_1^2 = \frac{V_{t_1} + V_{t_2}}{2} (t_2 - t_1)$$

Data diolah dengan uji *Kolmogorov Smirnov* untuk mengetahui normalitas data, jika terdistribusi normal dilanjutkan dengan statistik parametrik yaitu analisis varian satu jalan (ANAVA) dilanjutkan dengan uji *LSD (least significant different)* dengan taraf kepercayaan 95%.